

野菜を美味しくする乳酸菌を探そう



実施担当者 学校法人創価学園
創価高等学校
教諭 渡邊 啓子

1 はじめに

近年、乳酸菌が健康の分野で大変に注目されている。乳酸菌は人間の体には良い影響を及ぼすことがわかっているが、植物の成長にどのような影響を与えるのか、興味を持った生徒がいる。そこで、その生徒を中心に有志で2年前より自主的な探究活動に取り組んでいる。これまでの研究で、カイワレダイコンやコマツナに、微生物の種類が異なるヨーグルトの上清や、自分たちで作った乳酸菌培養液を与えて実験を行った結果、野菜の調理くずを用いた培養液が植物の成長を促進する可能性があることと、維管束の強度や味への影響を与える可能性があることがわかった。また、コマツナでは乳酸菌培養液を与えたものは全体的に甘さが強く、柔らかくて食べやすいとの評価が得られた（2023年度サイエンスキャスル研究費アサヒ飲料賞での研究成果）。

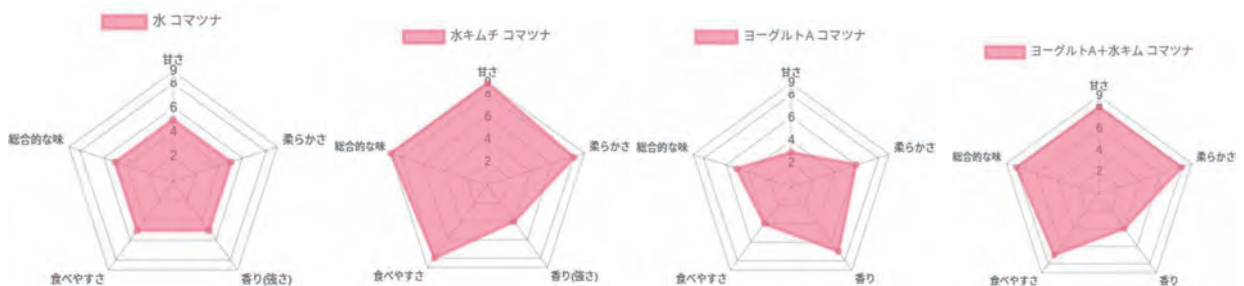


図1：コマツナに対する官能評価（味・食感・香りの違い）の結果

この結果について、乳酸菌または、乳酸菌の生成物が影響を及ぼしたと考えている。また、生徒たちは農業やごみの排出抑制にも興味を持っており、将来的には廃棄物の利活用につなげたいとの思いもある。そこで、野菜の調理くずから乳酸菌培養液を作製し、微生物の種類を明らかにするとともに、他にどのような野菜に影響を与えるのかを調べることを本研究の目的とした。

2 材料と方法

2-1 乳酸菌培養液の作製

乳酸菌培養液は、市販のダイコン、キュウリ、ピーマンの可食部と、これらの調理過程で調理くずとして捨てられてしまう部分（ヘタや皮等の不可食部、これ以降は調理くずとする）を、それぞれ煮沸したコメの研ぎ汁に漬け、1 日間常温で置いたあとに冷蔵庫で保存したものを使用した。冷蔵庫で保存していてもおいや様子に変化することから、10 日以内で実験に用いることとした。

2-2 微生物の分析

微生物の分析は、①分離培養を経て同定を行う方法と、②実験室での培養が困難な種も含めた分析方法である次世代シーケンスによる環境 DNA の分析（培養を経ずに試料中の微生物の DNA を抽出後に 16S rRNA 遺伝子の一部の短い配列を対象として PCR で増幅し、大量の遺伝子断片を分析する方法）で行った。具体的な方法を以下に記す。

乳酸桿菌の分離用培地（粉末・BD Difco ラクトバシラス MRS 寒天培地）に、酸生成を確認するための塩化カルシウム粉末と、精製水をメジューム瓶に加えた後に、電子レンジで加熱し、沸騰と攪拌を繰り返して粉末を溶解させた。追加で滅菌するために、固化した翌日に、同様にして加熱・溶解し、40℃程度まで温度低下後に滅菌シャーレに注いで固形培地を作製した。室温下で翌日以降に固形培地に雑菌が繁殖していないことを確認し、乳酸菌培養液を塗布して、25℃の恒温槽にて好気培養ならびに脱酸素剤を用いた嫌気培養（三菱ガス化学（株）のアネロパックを使用）を試みた。形成されたコロニーを、新しい培地で培養することを繰り返し、微生物の分離培養を行った。

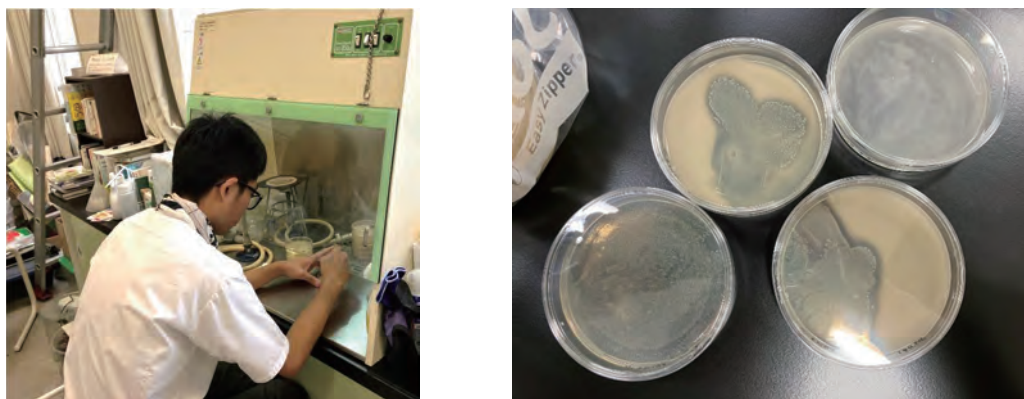


図 2：乳酸菌の分離培養

左：固形培地に乳酸菌培養液を塗布する様子、右：培養後に一部が透明になり酸生成を確認

分離した種の同定を行うために、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）による 16S rRNA 遺伝子の増幅を試みた。DNA 抽出を経ずに微生物のコロニーを鋳型にした。酵素は EmeraldAmp® PCR Master Mix（タカラバイオ（株））を、増幅範囲を指定するプライマーはバクテリアで汎用的に用いられている B27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG)と U1492RM (5'-GGYTACCTTGTTACGACTT)を使用した。プライマーの合成はユーロフィンジェノミクス（株）に委託した。サーマルサイクラーを用いた PCR 条件は「95℃ 30 秒、60℃ 30 秒、72℃ 1.5 分」を 25 回繰り返した。PCR 増幅産物の確認は 1%アガロースゲル電気泳動で行った。ゲルや TAE バッファーにエチジウムブロマイド溶液を添加し、紫外線を照射することで DNA の存在や濃度を確認した。PCR 増幅産物を Exo-SAP-IT 酵素で精製処理後に、ユーロフィンジェノミクス（株）に委託して塩基配列解析を行った。

環境 DNA を用いた分析は、試料からの DNA 抽出も含めて（株）生物技研に委託した。

2-3 野菜の味に与える影響

野菜は、収穫までの期間が短いカイワレダイコンとブロッコリースプラウトは室内での水耕栽培を、エダマメとミニトマトは屋外での土壌栽培を行った。種子から栽培を開始し、発芽するまでは水のみを与えた。発芽後は、1日おきに水または乳酸菌培養液を100倍希釈液したものを与えた。栽培後には、本校の生徒や教職員に協力を依頼し、10代～70代と年代の異なる男女約30名に対して、どれが何を与えて培養したかは明かさずに、食感や味の濃さについてアンケート調査を実施した。



図3：アンケート調査の様子

3 結果と考察

3-1 微生物の分析

乳酸菌の分離培養について、好気培養と嫌気培養を行ったが、好気培養の方の生育が早かった。培地の一部が透明になったことから、酸生成を行うコロニーが形成されたと考えられる(図2)。コロニーの大きさから判別して、異なる乳酸菌が少なくとも2種類は存在すると予測された。

独立したコロニーを固形培地に2～3回継代培養後に8サンプルを選びPCRでの増幅を試みた。PCR増幅産物の確認がなかなかうまくいかず苦戦したが、なんとか結果を得ることができ、*Leuconostoc mesenteroides* という乳酸菌の存在が確認できた。インターネットで検索した結果、これは清酒製造の過程で発生する乳酸菌であるとわかった。具体的な役割は継続して調査中である。一方で塩基配列がうまく解析できていないサンプルもあり、相同性が低いものもあった。今後、PCRや精製方法について条件を変えて再度分析したい。環境DNAを用いた分析についても、現在生徒が解析を進めているところである。

3-2 野菜の味に与える影響

水耕栽培の結果、カイワレダイコンとブロッコリースプラウトの両方で味の違いが見られた。官能評価の結果、味の濃さ(辛さ)、硬さの点で調理くずを用いた培養液が最も評価が高かった。これまでの実験でも同様の結果が得られており、やはり乳酸菌培養液が野菜の味の変化に影響を及ぼしていると考えられた。両方の野菜はアブラナ科に属し、イソチオシアネートという含硫化合物の辛味成分を含んでいる。乳酸菌培養液を与えたものの辛味が増したことから、この含有量が増加したと考えられる。イソチオシアネートは抗がん、抗炎症および抗酸化などの効果から疾患予防や健康増進への寄与が期待されており、ブロッコリースプラウトで有名な成分のスルフォラファンもこれに含まれる。乳酸菌培養液を与えて栽培することでイソチオシアネートの含有量を増やし、野菜の機能性向上にもつなげられる可能性があると考えられる。

土壌栽培の結果、エダマメでは調理くずを用いた培養液の草丈が最も高く、味やマメの硬さについての評価も高かった。猛暑の影響もあり、ミニトマトは水で栽培した草丈が最も高くなった一方で、実の数が少なく味の評価はできなかった。また、ナスでも挑戦したものの枯れてしまったため、今後も継続して実験を行う。

4 まとめ

今後の予定として、微生物の解析を継続し、考察を深めることと、乳酸菌培養液中の成分について、何が野菜の味や成長に影響を与えているのかを特定するため、継続して野菜の水耕栽培と土壌栽培を行うことと、イソチオシアネートの含有量やアミノ酸などの成分分析にも挑戦したい。将来的には、廃棄される調理くずから土壌に優しい液肥の作製を目指す。

研究成果のみならず、活動を通して生徒が以下のように成長することができた。

- ①お互いの意見を出し合い、学校内の他学年の生徒など知らない人にも積極的に声をかけて、アンケート調査への協力を依頼するなど、コミュニケーション能力の向上が見られた。
- ②実験が上手く進まなかった際の修正案や、結果の考察について論理的思考力が向上した。
- ③成果発表会では後輩たちも協力して発表し、他校の発表に対しても積極的に聴講や質問するなど1年生の成長も見られた。
- ④成果発表の場で頂いたアドバイスを謙虚に受け止め、追加でアンケート調査を実施するなど生徒の積極性が増した。



このような機会を頂いた公益財団法人中谷財団をはじめ、ご協力頂いた皆様へ感謝申し上げます。

図4：成果発表会でのポスター発表

成果発表

- 1) 2025年度 公益財団法人中谷財団 科学教育振興助成 成果発表会
- 2) 東京生物クラブ連盟主催 第58回「生物研究の集い」展示発表（ラボラトリー賞）
- 3) 2025年度 第3回 本校オープンキャンパスにて研究紹介

謝 辞

本研究は、公益財団法人中谷財団「2025年度 科学教育振興助成（個別校助成）」を受けて実施しました。特に微生物の分析には費用がかかることから、自校で実施できずにおりましたが、本研究助成に採択して頂き、研究を進めることができました。関係各位に厚く御礼申し上げます。

また、微生物の分析方法についてのアドバイスを頂戴し、PCR 関連に必要な装置を貸して頂いた創価大学理工学部長の黒沢則夫教授へ感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 奈良女子大学 「乳酸菌と植物の共生」 (https://nwuss.nara-wu.ac.jp/media/sites/11/ssh08_12.pdf)
- 2) 松井三郎ら 「乳酸菌 *Lactobacillus fermentum* 403 菌が生成するオーキシシン・サイトカイニンの分析方法の開発—プロバイオティク環境農業への応用原理」 (https://www.jstage.jst.go.jp/article/jswtb/48/3/48_117/_pdf)
- 3) 田中尚人 「乳酸菌を分離するための基本」 (https://www.jstage.jst.go.jp/article/jslab/30/1/30_3/_pdf/-char/ja)
- 4) 鈴木チセ 「食品からの乳酸菌の分離・簡易同定に関する操作」 (https://www.fmric.or.jp/ffd/ffmanual/100755_suzukic.pdf)
- 5) 中村俊之 「植物性食品成分イソチオシアネートの反応性とその生理的関連性」 (https://www.jstage.jst.go.jp/article/jhej/70/7/70_448/_pdf)

以上